

DIE BESTIMMUNG DES PREGNANDIOLS
IN DER NORMALEN SCHWANGERSCHAFT UND IM WOCHENBETT
DURCH DIE DÜNNSCICHTCHROMATOGRAPHIE

VON

WOLFGANG BEIER

1960

Aus der Universitäts-Frauenklinik der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Direktor: Professor Dr. Friedberg

DIE BESTIMMUNG DES PREGNANDIOLS
IN DER NORMALEN SCHWANGERSCHAFT UND IM WOCHENBETT
DURCH DIE DÜNN SCHICHTCHROMATOGRAPHIE

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

WOLFGANG BEIER

aus Zwickau (Sachsen)

MAINZ 1968

Dekan:	Professor Dr. Dr. G. Thews
Referent:	Professor Dr. G. Stark
Korreferent:	Professor Dr. V. Friedberg
Tag der mündlichen Prüfung:	23. November 1968



MEINER LIEBEN FRAU

GEWIDMET

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
Einleitung und Aufgabenstellung	1
Stand der Frage	2
Erste Darstellung und Untersuchung von Progesteron und Pregnandiol .	2
Chemische Nomenklatur	2
Progesteronstoffwechsel -Forschung	4
Ort des Stoffwechselgeschehens im Organismus	5
Physiologische Wirkungen	5
Bestimmung der Progesteronwirkung durch biologischen Test	6
Progesteron-Stoffwechselwirkungen	7
Bildung von Progesteron und Ausscheidung von Pregnandiol	8
Anstieg der Pregnandiolausscheidung in der Gravidität, Schwankung der Ausscheidung	10
Die Methodik der bisherigen Bestimmungen	10
Die Dünnschichtchromatographie nach STAHL	12
Methode der Dünnschichtchromatographie nach WALDI, für die Untersuchung verwendete Methode	13
Ergebnisse der Untersuchungen	16
Diskussion der Ergebnisse	19
Zusammenfassung	22
Literaturnachweis	23

EINLEITUNG UND AUFGABENSTELLUNG

Im Jahre 1929 wurde erstmals von Marrian (89) (90) und 1930 von Butenandt (17) aus Schwangerenharn ein C_{21} -Steroid isoliert, das Pregnandiol. Die Aufklärung der chemischen Struktur und die Zuordnung des Stoffes zu den Sterinen gelang Butenandt 1931 (18) (19). Den Nachweis dafür erbrachte er unter anderem 1934 durch die Überführung des Pregnandiols in Progesteron (21). In zahlreichen Arbeiten und unter Anwendung unterschiedlichster Methoden wurde seitdem die Pregnandiolausscheidung bei Mensch und Tier (Grady (46), Hoffman (59), Pearlman (102), Westphal (142), Wiest (144), Williams (145)), unter normalen (Cuyler (22), Editorial (39), Fotherby (44), Hammerstein (52), Huis in 't Veld (61), Keller (69), Molen (93), Pivel (104), Quilligan (108), Reimann-Hunziker (111), (112), Sommerville (123), Ungar (133)) und pathologischen Verhältnissen (Bianchi (9), Coyle (28), Diczfalusy (35), Erb (41), Fischer (43), Kaiser (65), Klopper (71), Shen (119)) sowie in der gestörten (Kaiser (65), Milliez (92), Pannain (99)) und in der normalen Schwangerschaft bestimmt (Béthoux (8), Bradshaw (13), Buttenberg (23), Chaug Shen (24), Deshpande (32), Guercio (47), Hooker (60), Jayle (63), Kaufmann (66), Klopper (71), Shen (119), Semmou (120), de Watteville (139), Zander (153), (156)).

Durch die Entwicklung der Dünnschichtchromatographie in den letzten Jahren wurde eine Methode geschaffen, durch die sich Pregnandiol im Urin relativ leicht isolieren und bestimmen läßt.

Die Ausscheidung von Pregnandiol in der normalen Schwangerschaft und im Wochenbett soll in der vorliegenden Arbeit mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie bestimmt werden.

STAND DER FRAGE

Erste Darstellung und Untersuchung von Progesteron und Pregnandiol

Die ursprüngliche Darstellung des Progesterons durch Elution mit Alkohol und Äther aus Schweinegelbkörpern gelang 1931-1932 Allen und Corner (2). Durch Trennung mit Essigsäure und Alkohol wurde durch Fevold und Hissaw (42) eine weitere Reinigung erzielt. Es fanden sich dabei zwei Faktoren, die mit A und B bezeichnet wurden. Hormon B wurde später als Progesteron, Hormon A als Relaxin bekannt. 1934 gelang es fast gleichzeitig vier Forschergruppen zu einer Reindarstellung des kristallisierten Hormons zu gelangen (Butenandt und Westphal (17), Slotta, Ruschig und Fels (122), Hartmann und Wettstein (55) und Wintersteiner und Allen (146)). Durch gemeinsame Übereinkunft dieser Forscher (107) erhielt 1935 das Hormon den Namen Progesteron.

Als physikalische Eigenschaften zeigten sich zwei Kristallmodifikationen, α -Progesteron vom Schmelzpunkt 128°C und β -Progesteron vom Schmelzpunkt 122°C . Im gelösten Zustand unterscheiden sich beide nicht voneinander. Reines Hormon zeigte sich im Unterschied zum rohen Extrakt als alkaliresistent.

Die chemische Struktur des Progesterons wurde 1934 von Butenandt (20) durch die Darstellung des Progesterons aus Stigmasterin geklärt. Einen zweiten Weg fand Butenandt gleichzeitig durch die Überführung des Pregnandiols in Progesteron (21). Pregnandiol war zuerst 1929 von Marrian (89) und 1930 von Butenandt (17) aus Schwangerenurharn isoliert worden. Die Verbindung erwies sich als ein biologisch unwirksamer, gesättigter Alkohol, der strukturmäßig zu den Sterinen zu rechnen war (Butenandt 1931)(18)).

Chemische Nomenklatur

Sterine sind stickstofffreie Substanzen, deren Aufbau ein polycyclischer Kohlenwasserstoff zugrunde liegt. Dieser Kohlenwasserstoff besteht aus einem cyclischen Fünfering, der durch Anfügen von drei C-Atomen an das vollständig hydrierte Phenantren aufgefaßt werden kann. Dadurch entstehen drei Sechseringe und ein Fünfering, alle vollständig hydriert, das Cyclopentano-perhydro-phenantren. Nach ihm werden die Ringe mit den Buchstaben A - D bezeichnet, die einzelnen C-Atome mit Ziffern, beginnend im Ring A mit C₁ bis C₁₇ und C₁₈ bis C₂₇ in den angegliederten Seitenketten. Die Seitenketten sind bei den Steroiden weitgehend abgebaut oder fehlen ganz. Dabei fin-

den sich mehrere asymmetrische C-Atome. Die räumliche Anordnung der C-Atome gestattet zwei spannungsfreie Formen des auf das Cyclohexan zurückzuführenden Sechseringes. Dadurch kommt es bei der Kondensation zweier Ringe zu zwei stereoisomeren Formen, einer cis- und einer trans-Form. Nach Übereinkunft liegt die Methylgruppe (C_{19}) an C_{10} vor der Ringebene. Diese Lage, das heißt die cis-Stellung, wird gewöhnlich als β -Konfiguration und die hinter der Ringebene liegende (trans-Stellung) als α -Konfiguration bezeichnet. Bei der Schreibung der Formel findet dies durch Strichelung des Valenzstriches bei der β - und durch einen ausgezogenen Strich bei der α -Konfiguration Berücksichtigung.

Pregnandiol gehört zu den Steroiden, einer Gruppe von Verbindungen, die sich ebenfalls auf das Cholesterin zurückführen lassen, sich jedoch durch weitgehenden Abbau beziehungsweise das Fehlen der Seitenkette von den Sterinen unterscheiden. Durch die sterischen Möglichkeiten lassen sich beim Pregnandiol ebenfalls zwei isomere Reihen aufstellen, die Pregnan- und die allo-Pregnanreihe. Beide unterscheiden sich durch die Konfiguration an C_5 . Dabei entspricht das Pregnan der cis-Form und das allo-Pregnan der trans-Form. Die Gesamtzahl der C-Atome beträgt beim Pregnandiol 21. Als 5 β -Pregnan-3 β , 20 diol wurde es 1929 von Marrian im Schwangerenharn gefunden (89), (90). Wie Odell und Marrian (97) später zeigten, kommt es durch Bindung an Glucuronsäure als wasserlösliche, hydrolysierbare Form darin vor. Die Isolierung des kristallisierten Natriumsalzes des Pregnandioldglucuronids gelang 1936 zuerst Venning und Browne (134). Es stellt den wesentlichsten Bestandteil der Ausscheidungsprodukte des Progesteronstoffwechsels dar (Westphal 1940 (140), Kaufmann, Westphal und Zander 1951 (66) und Kaufmann 1955 (67)). Ein kleiner Anteil des Pregnandiols wird als Sulfatfraktion im Harn gefunden. Die Verteilung der Isomere zwischen den einzelnen Fraktionen wurde 1962 von Crepy und Mitarbeitern (29) untersucht. Außer diesem fanden sich im Harn schwangerer Frauen und Tiere noch zahlreiche andere Produkte des Progesteronstoffwechsels (Cohen, Marrian und Watson (26), Heard und McKay (56)).

Um eine kurze, aber klare Definition der vielfältigen Isomere der Sterine und Steroide zu erhalten, wurde dem Namen des Grundkohlenwasserstoffes verschiedene Suffixe beigegeben. Sauerstoffatome, die durch Doppelbindung am Kohlenstoffatom stehen, werden als -on, -dion und OH-Gruppen als -ol, -diol, -triol usw. bezeichnet. Die Stellung des Substituenten und bei Alkoholen zusätzlich die Konfiguration wird in Klammern, der Numerierung des Grundskelettes entsprechend, hinzugefügt. Ungesättigte Verbindungen werden

als -en, -dien usw. bezeichnet. Die Lage der Doppelbindung durch ein griechisches Delta, dazu als Index das erste oder (durch Doppelpunkt getrennt) erste und zweite C-Atom in der Reihenfolge der Numerierung.

Progesteronstoffwechsel-Forschung

Durch die Mannigfaltigkeit der Progesteronmetabolite und um eine Vielzahl bekannter physiologischer Progesteronwirkungen zu erklären, wurde der Progesteronstoffwechsel von vielen Arbeitsgruppen erforscht. Dafür wurden verschiedene Untersuchungsmethoden angewandt: Erfassung der Metabolite bekannter Steroide, die dem Blut zugesetzt wurden, Untersuchung von Gewebsschnitten, Homogenaten und isolierten Zellfraktionen, die Erfassung der Verteilung und Umwandlung markierter Steroide (radioaktiver C¹⁴) in Stellung 3 des Cholesterins und anderer Substanzen). Die Zellen der Nebennierenrinde vermögen im Progesteron in verschiedene Stellungen Hydroxylgruppen einzuführen und dadurch Rindenhormone zu bilden. Pregnenolon kann zu Progesteron durch Dehydrierung und Verschiebung einer Doppelbindung werden (Leuthardt (82)). Progesteron ist offenbar die unmittelbare Muttersubstanz der Rindensteroidoide.

Besondere Beachtung fanden die einzelnen Strukturaktoren in Abhängigkeit zu der von ihnen hervorgerufenen biologischen Wirkung: Insbesondere der Ring A mit dem konjugierten System 3-keto- Δ^4 , die sterischen Anordnungen der verschiedenen Asymmetriezentren, die Funktion des angularen Methyls C₁₉, der Einfluß des Charakters der Seitenkette an C₁₇ und der Einfluß verschiedener, insbesondere sauerstoffhaltiger Substituenten am Ringsystem oder der Wirkung weiterer in das Progesteronmolekül eingeführter Doppelbindungen. Der sauerstoffhaltige Substituent in Stellung 3 scheint für die gestagene Aktivität unbedingt erforderlich zu sein (Hañ (54)). Durch Reduktion der Keto-Gruppe zu der 3 β -OH-Gruppe erhielt man 3 β -oxy- Δ^4 -pregnen-20-on, das ebenso aktiv wie Progesteron war (Gut (48)). "Unerläßlich ist die Doppelbindung Δ^4 im Ring A, da durch deren Absättigung die Wirkung aufgehoben wird. Dagegen wird durch Einführung einer weiteren Doppelbindung die Aktivität nicht beeinflußt. Durch völlige Aromatisierung des Ringes A erhielt man ein Analogon, das sowohl gestagen als auch östrogen unwirksam war" (Dje-rassi (37)).

Ort des Stoffwechselgeschehens im Organismus

Progesteron wird intermediär in Pregnan-3,20-diole - wie bereits erwähnt - übergeführt. Die Resultate verschiedener Versuche lassen hauptsächlich die Leber als Ort des Stoffwechselgeschehens bei der Progesteronumwandlung erscheinen (Sturm (129)). Bebrütung von Progesteron mit Kaninchen- oder Rattenleber erbrachte Aufhebung der Struktur 3-keto- Δ^4 im Ring A (Wiswell (147)). Die Reaktion wird durch Gegenwart von Tricarbonsäuren beschleunigt. Die Umwandlung des Hormons in Pregnandiol konnte auch in Lebergewebschnitten in Sauerstoff-Atmosphäre in Gegenwart von DPN und Nicotinamid erwiesen werden. Die Reduktion der 20-keto-Gruppe des Progesterons wurde durch den Nachweis des Δ^4 -Pregnen-20 α -ol-3-on im Organismus eviscerierter weiblicher Ratten erbracht (Wiest (144)). Gesättigte Steroid-Sulfate entstehen durch C-O-Spaltung (Williams (145)). Die Reduktion des Progesterons verläuft weder im Uterus noch in den Ovarien, da nach Progesteronzufuhr eine Erhöhung der Pregnandiolausscheidung sowohl bei Männern als auch bei hysterektomierten Frauen nachzuweisen war (Keller (69), Sommerville (123)). Eine funktionstüchtige Uterusschleimhaut ist ebenfalls nicht erforderlich (Neuhaus (95)). Nach peroraler Progesteronzufuhr wurde Pregnandiol bei einem Patienten mit Gallengangsdrainage in der Galle festgestellt (Grady (46), Pearlman (102), Rogers (113)). Bei Leberaffektionen finden sich Progesteronerhöhungen (Keller (69), Maeyama (88)). Hydroxylierungsvorgänge und andere Stoffwechselveränderungen ließen sich jedoch auch bei der Perfusion der isolierten Nebenniere finden (Levy (83)). Davis (31) wies Pregnandiolentstehung neben Progesteron überdies auch aus Cholesterin, Acetat und Pregnanolon durch Markierung mit C^{14} nach.

Physiologische Wirkungen

Nach Gaben von Gelbkörperextrakten fanden Corner und Allen (27) erstmals 1928, daß bei ovariectomierten Kaninchen ein Abort verhindert wurde. Ferner fanden sie ein starkes, der prägraviden bis graviden Entwicklungsphase der Uterusschleimhaut entsprechendes Wachstum des Endometriums bei geschlechtsreifen Kaninchen (27). Dieser Gelbkörperextrakt, der prägravid Veränderungen auslöste, wurde daher Progestin genannt. Später wurden synthetische Steroidderivate mit progesteronähnlicher Wirkung nach dem Vorschlag von Miescher Gestagene genannt. Die Hauptwirkung des Gelbkörperhormons erfolgte somit am Uterus, indem das Endometrium auf die Implantation des

befruchteten Eies vorbereitet wird. Progesteron baut in der zweiten Cyclushälfte die Sekretionsschleimhaut auf (Butenandt (22), Pickett (104), Venning (135)). Dabei besteht ein Synergismus zur Wirkung der Oestrogene, die den Uterus für die nachfolgende Gestagenwirkung empfindlicher machen. Geht diese Wirkung nicht voraus, so werden zur Erreichung des gleichen Gestationseffektes größere Gestagenmengen nötig (Hisaw (58)). Der Endometriumstoffwechsel wird durch das Progesteron im allgemeinen gehemmt, zur Zeit der Ovulation tritt jedoch eine Stoffwechselförderung ein. Die Hemmwirkung beruht wahrscheinlich auf einem Antagonismus zum Follikelhormon, die Wirkungssteigerung auf einem Synergismus (Burger (14)). Die Ovulation wird während der Proliferationsphase unterdrückt (Klopffer (71)). Der Ovulationsmechanismus selbst ist ungeklärt, jedoch findet sich eine erhöhte Pregnandiolausscheidung (sowie erhöhte Oestrogenausscheidung) bei Gabe von FSH (Westohal (141), (143)). Während des Cyclus erfolgt ein Anstieg des Pregnandiols bis zu wenigen Tagen vor der Menses (Fotherby (44), Keller (69)). Der Oestrogen- und Progesteronabfall führt zur Menses (Hammerstein (52), Keller (69)). Diese Cyclusschwankungen wurden verschiedentlich zur Bestimmung der empfängnisfreien Zeit verwendet (Reimann-Hunziker (111), (112)), andererseits der Anstieg der Pregnandiolausscheidung in der Schwangerschaft zur Beurteilung der Plazentafunktion (Russell (115)).

Bestimmung der Progesteronwirkung durch biologischen Test

Im Abstand von 14-18 Stunden nach der Paarung werden weibliche Kaninchen kastriert, wobei zur histologischen Kontrolle der Uterusschleimhaut ein Stück des Uterushorns mitentfernt wird. Unter der Wirkung des Follikelhormons muß die Schleimhaut proliferiert sein. Die Substanz, deren Gehalt an Gelbkörperhormon geprüft werden soll, wird in öligiger Lösung innerhalb von fünf Tagen subcutan injiziert. Am darauffolgenden sechsten Tag werden die Tiere getötet und die Uterusschleimhaut histologisch untersucht. Eine Kanincheneinheit (KE) ist diejenige kleinste Menge, welche die Umwandlung der proliferierten Schleimhaut in die "pseudogravide" bewirkt.

Auf die Beobachtung von Allen (2), daß junge Kaninchen nach Vorbehandlung mit Follikelhormon und Zufuhr von Gelbkörperhormon mit Ausbildung einer Sekretionsschleimhaut reagieren, wurde von Clauberg (25) ein Test ausgearbeitet. Infantile weibliche Kaninchen von 600-800 g Gewicht erhalten acht Tage lang je 10 ME Follikelhormon subcutan. Nach Ausbildung

der proliferativen Uterusschleimhaut wird vom neunten bis dreizehnten Tag das Gelbkörperhormon in Öllösung subcutan injiziert. Eine (infantile) Kanincheneinheit ist die kleinste Menge, welche eindeutige Veränderungen des Endometriums im Sinne der Transformationsphase hervorruft. "Durch intrauterine Verabreichung wird die Empfindlichkeit des Nachweises bedeutend gesteigert" (McGinty; Haskins jr.; Hoffmann (54)). Es sind bereits $0,7 \mu\text{g}$ Progesteron (entsprechend $0,6 \text{ mg}$ bei subcutaner Injektion) nachweisbar" (Hinglais und Hinglais (54)).

Der Hooker-Forbes-Test beruht auf der nach Progesteronzufuhr auftretenden Kernveränderung in den Stromazellen des Endometriums der kastrierten Maus (Hooker (60)). Bei subcutaner Injektion ist die Minimaldosis $125 \mu\text{g}$, bei intrauteriner nur $0,0002 \mu\text{g}$ (Hooker und Forbes (60)). Da es sich um eine Alles-oder-Nichts-Reaktion handelt, ist eine Oestrogenvorbehandlung nicht notwendig. Es wird lediglich die kleinste wirksame Dosis ermittelt. Mit den Ergebnissen chemischer Bestimmungsmethoden scheint dieser Test nicht übereinzustimmen. Als Maßeinheit wird daher die HF-Aktivität oder das "Progesteron-Äquivalent" angegeben.

"Astwood (54) schlug zur Auswertung von Progesteron die Placentombildung am geritzten Endometrium scheinschwangerer Ratten vor. Nach Alexander, Frazer und Lee (54) kann man von progesteronähnlicher Wirkung nur dann sprechen, wenn eine Erhaltung der Schwangerschaft bewirkt wird. Sie schlagen einen Test an Ratten vor, die am neunten Tag der Gravidität kastriert werden. Pincus und Mitarbeiter (54) verwendeten die Steigerung der Carboanhydrase-Aktivität im Endometrium, die sich mit dem histologischen Test weitgehend decken."

Als eine Internationale Einheit wurde nach Reindarstellung des Hormons 1935 $1 \text{ mg } \beta\text{-Progesteron}$ des in London aufbewahrten Standardpräparates bezeichnet (107). Seit 1951 werden die Handelspräparate nur noch gewichtsmäßig deklariert, indem der Gehalt an reinem Progesteron angegeben wird.

Progesteron-Stoffwechselwirkungen

Progesteron übt außer den bereits schon beschriebenen Wirkungen eine Anzahl Stoffwechseländerungen aus. Die glycogenolytische Tendenz des Follikelhormons wird durch das Progesteron blockiert. Es kommt zu einer Anreicherung in der Sekretionsphase (Burger (14)). Landau (78) fand bei einem leichten Diabetes keine Beeinflussung des Blutzuckerspiegels noch der Glukoseaus-

scheidung. Im Eiweißstoffwechsel zeigt sich ein kataboler Effekt mit Erhöhung der Stickstoffausscheidung bei unveränderter Nebennierenrindenaktivität, sowie Erhöhung der Natriumchlorid-Ausscheidung im Urin. Daraus werden Rückschlüsse auf eine hormonelle Regulation des Körperwachstums gezogen (Kyle (73), Landau (75), (76), (77)). Nach Jones (64) erhöht die Progesteronerhöhung in der Schwangerschaft indirekt auch die Aldosteron- und Cortisol-Ausscheidung. Dagegen fand Stark (127) keine Aldosteronerhöhung.

Progesteron steigert ferner die Geschwindigkeit der Dehydrogenierung des DPNH, hemmt die Cytochromreduktion und die gekoppelte oxydative Phosphorylierung und beschleunigt die Oxydation der Ascorbinsäure (Wade (137)). Es beeinflusst den Sauerstoffverbrauch aller Organe. Ob eine Hemmung oder Förderung der Atmung resultiert, wird vom reagierenden Gewebe bestimmt (Burger (15)). Ein pyrogener Effekt mit Steigerung der Körpertemperatur führt zu charakteristischen Temperaturänderungen im Verlaufe des weiblichen Cyclus (Klopper (71)).

In kleineren Konzentrationen hemmt das kristallisierte Hormon das Wachstum zahlreicher Mikroben, in größeren Konzentrationen wirkt es bakterizid (Koch (72)).

Bildung von Progesteron und Ausscheidung von Pregnandiol

In einem Organismus, dem ein Corpus luteum, Ovarien und Nebennieren fehlen, entsteht kein Pregnandiol (Keller (69)). Während im Cyclus der gesunden Frau die Progesteronbildung hauptsächlich durch das Corpus luteum und das Ovar erfolgt, ist der ovarielle Anteil schon in der Frühschwangerschaft gering (Diczfalusy (35)). Bei histologischen Untersuchungen fand Taylor (131), daß die Progesteronproduktion durch Thekazellen, interstitielles Gewebe, Lutealzellen und im unreifen Ovar erfolgen kann, ohne daß spezifische anatomische Einheiten nachweisbar sind. Durch den Nachweis eines praeovulatorischen Gipfels der Progesteronbildung im Cyclus kann eine Bildung im reifenden Follikel vermutet werden (Dibbelt (34)). Die Placenta bildet die Hauptmenge des Progesterons (Jailer (62), Pasetto (100)). Bei Mehrlingschwangerschaften ist die Progesteronbildung ebenfalls erhöht (Rawlings (110)). Dagegen fand Kaiser (65) keine verwertbare Erhöhung. Im Gegensatz zur Menopause erfolgt die Progesteronbildung in der Plazenta ohne einen negativen Rückkopplungsmechanismus (Plotz (106), Rothchild (114)).

Im menschlichen Organismus entstehen noch andere biologisch wirksame Ge-

stogene (Zander (155)). Pregnan diol ist auch bei Fehlen von Corpus luteum und Plazenta nachweisbar (Herzmann (57), Keller (69)). Daher wurde die Nebenniere als weiterer Ort einer Progesteronbildung untersucht. Eine Entstehung in der Nebenniere ließ sich durch den Nachweis einer arterio-venösen Differenz des Progesterongehaltes im Nebennierenblut erbringen (Balfour (4)). Bei Nebennierenhyperplasie ist auch die Pregnan diolausscheidung erhöht (Berliner (7), Bougiovanni (11)). Normalerweise ist der Anteil der Nebenniere zur Gesamtpregnan diolmenge bedeutungslos (Borth (10), Venning (136)).

In der Leber findet keine Progesteronbildung statt. Die Pregnan diolausscheidung war bei Progesteroninjektion in eine Körpervene oder intraportal jeweils gleich (Quilligan (108)). Ein treppenförmiges Ansteigen der Pregnan diolausscheidung bei Progesteroninjektion in der Menopause, was als "priming effect" (Anregungseffekt) bezeichnet wurde (Sommerville (123)), hat sich nicht bestätigen lassen. Die Ausscheidung des Pregnan diols erfolgt hauptsächlich in Form der Glucuronide, weniger als Sulfate (Crep y (29), Sandberg (116), Shen (119)).

Eine Abhängigkeit der Pregnan diolmenge besteht auch vom Urin-Eiweißgehalt, der die bestimmbare Menge verringert (Bradbury (12), Würterle (148)). Dieser Umstand ist bei dem Vorliegen von Gestosen besonders von Bedeutung.

Coyle (28) fand bei Praeeklampsie subnormale Werte. Bei niedriger Pregnan diolausscheidung und drohendem Abort ist keine Austragung zu erwarten (Langmade (81)). Dagegen lag bei einer intakten Abdominalgravidität die Pregnan diolausscheidung ebenfalls im Normbereich (Erb (41)).

Pregnanolon- und Pregnan diolausscheidungen weisen eine positive Korrelation auf (Molen (93)), ebenso gehen Pregnan diol- und Pregnan triolschwankungen im Cyclus parallel (Pickett (104)). Pregnanolon trägt ebenfalls zur Pregnan diolkonzentration bei (Acros (1), Pearlman (102)), ebenso Desoxycorticosteron (Hamblen (51), Hoffman (59), Westphal (142)). Diese Umwandlung dürfte physiologischerweise jedoch keine Rolle spielen. Simmer und Simmer (121) weisen darauf hin, daß nur ein Bruchteil des Progesterons als Pregnan diol im Urin ausgeschieden wird. Bezieht man das Pregnan diol im Urin nur auf das Progesteron der Plazenta, so ergibt sich eine Umwandlungsrate von 10,5 - 25,0 %, wobei noch der Anteil des Corpus luteum graviditatis abgezogen werden muß. Nach Gaben von markiertem Progesteron fanden sich 70 % in der Plazenta, 30 % extraplazentar (Bengts-son (6), Ejarque (40), Sandberg (116)). Ein Rückschluß von der ausge-

schiedenen Pregnandiolmenge auf den Progesteronspiegel ist nur bedingt möglich, wie nach Simmer und Simmer (121) aus verschiedenen Versuchen hervorgeht: Während in der Frühschwangerschaft 40 % des zugeführten Progesterons wiedergefunden werden, lassen sich in der zweiten Hälfte nur noch durchschnittlich 10,6 % (wie bei Kastratinnen und Frauen in der Menopause) wiederfinden. Pregnandiol stellt prozentual zwar den größten Anteil der Progesteronmetabolite dar (Ungar (133)), doch werden im Pregnandiolkomplex bis zu 20 % anderer Pregnanderivate mitbestimmt.

Anstieg der Pregnandiolausscheidung in der Gravidität, Schwankung der Ausscheidung

Dignam (36) fand während der Gravidität keinen Progesteronanstieg im Blut. Die Pregnandiolausscheidung ist jedoch in der Gravidität erhöht (Guercio (47), Lachèse (74)). Ebenso steigt Pregnandiol während der Schwangerschaft im Plasma und ist 24 Stunden post partum nicht mehr nachweisbar (Bradshaw (13)). Bei Neugeborenen fällt das Pregnandiol stark (bis auf null) ab (Nakajima (94), Staemmler (125), Zander (150)). Von zahlreichen Autoren wurden starke Schwankungen der Pregnandiolausscheidung bei insgesamt stetigem Anstieg während der Gravidität sowohl individuell als auch an aufeinanderfolgenden Tagen beobachtet (Burthiault (16), Butenandt (22), Deshpande (32), Dibbelt (33), Kaufmann (66), Lachèse (74), Loraine (85), Louros (86), Semmous (120), Simmer (121), Tonconi (132)).

Die Methodik der bisherigen Bestimmungen

Die ersten Bestimmungen des Pregnandiols durch Marrian (89), (90) und Butenandt (17) erfolgten gravimetrisch nach Aufbereitung des Harns schwangerer Frauen. Odell und Marrian (87) stellten später fest, daß es als wasserlösliches, hydrolysierbares Glucuronid vorliegt. Die Isolierung dieses Glucuronids gelangt zuerst Venning und Browne (134)). Sie extrahierten den Harn mit Butanol und wogen das aus Wasser mit Aceton umkristallisierte Produkt. "Astwood und Jones (56) bestimmten den Glucuronsäureanteil titrimetrisch beziehungsweise colorimetrisch." Ebenso bestimmte Gutermann (49) colorimetrisch, indem er durch Säurehydrolyse freies Pregnandiol erhielt, welches durch Behandlung mit konzentrierter Schwefelsäure eine Gelbfärbung erhält. Eine neuere colorimetrische Technik wurde

von Béthoux (8) beschrieben. Stimmel (128), der die Ungenauigkeit der Farbreaktion nachwies, bestimmte photometrisch nach Adsorption an Aluminiumoxyd. Die Methode Venning und Browne (135) wurde durch Westphal (142) später verbessert, der das Natrium-Glucuronat des Pregnandiols in das schwerlösliche Bariumsalz überführte. Dadurch gelang es, Mengen von 20 γ im Reagenzglas sicher zu bestimmen. Ungenauigkeiten ergaben sich lediglich durch die Mitbestimmung anderer C_{21} -Metabolite, die mit ausgef  llt wurden, wie zum Beispiel Pregnan-3 α -ol-20-on, das von Marrian aus Natrium-Pregnandiol-Glucuronat isoliert wurde.

Jayle (63) kristallisierte Pregnandiol durch Messung der gesamtl  slichen in Butanol ausgeschiedenen Glucuronide und Aufarbeitung mit Aceton. Die Vorteile der colorimetrischen Bestimmung nach Isolierung des Pregnandiols von mit ausgef  llten Metaboliten wurden von vielen Autoren durch die Methode von Klopfer, Michie und Browne (71) genutzt. Steigerung der Farbintensität erzielte Oertel (98). Weitere Pregnandiolbestimmungsm  glichkeiten ergaben sich durch die Spaltung des Glucuronids mit β -Glucuronidase (Chaug Shen (24)) und anschließende Chromatographie (Goldzieher (45)). Hammond (53), Lukkainen (87), Patti (101) und Raman (109) bestimmten gaschromatographisch oder papierchromatographisch Zander und Simmer (152)). Ferner wurde Pregnandiol zu Pregnandion oxydiert und dann nach Zimmermann (535 $m\mu$) bestimmt oder eine Oxydation der Glucuronide mit $NaBiO_3$ (3) erzielt. Eine Methode zur Bestimmung des freien Pregnandiols fand Pivel (105).

Eine Aufzählung der Methoden findet sich bei Ober (96) und Lipp (84).

DIE DÜNNSCHICHT-CHROMATOGRAPHIE NACH STAHL (126)

Die Dünnschicht-Chromatographie ist eine Methode zur adsorptions- und verteilungschromatographischen Trennung kleinster Mengen von Stoffgemischen. Die verwendeten Glasplatten ("offene Säulen") haben nur kurze Trennstrecken (10 - 14 cm).

Vorteile der Methode:

1. Schnellere Bestimmung als bei Säulen- und Papierchromatographie.
2. Die anorganische Sorptionsschicht (Kieselgel) verträgt aggressive Sprühreagenzien und hat keine störende Eigenfluoreszenz.
3. Es entstehen gegenüber Papier- und Säulenchromatographie schärfere Trenneffekte.
4. Die Erfassungsgrenze ist zehnmal besser als bei Papier.
5. Es besteht ein geringerer Bedarf an Untersuchungssubstanz, so daß eine Spurenanalyse möglich wird.

Dadurch eignet sich die Methode zur Untersuchung zersetzlicher Substanzen, der Überwachung chemischer und biologischer Reaktionsabläufe, sowie zur Schnelldiagnose bei Vergiftungen.

Bedingungen an die aktive Sorptionsschicht sind:

1. gleichmäßige Oberfläche,
2. Haftfestigkeit,
3. Laufzeiten verschiedener Fließmittel,
4. Trenneffekt für verschiedene Substanzgemische,
5. Aktivität (Fließmittel = Elutionsmittel).

Der Nachweis der getrennten Substanzen erfolgt unter anderem durch

1. ultraviolettes Licht,
2. Fluorescein-Brom-Probe,
3. Besprühen mit starken Säuren,
4. Antimon (V)-chlorid-Tetrachlorkohlenstoff,
5. Chloroform oder
6. schwefelsaure Jodlösung.

Eine Arbeit über die Trennung von Pregnandiol und Pregnantriol mit der Dünnschichtchromatographie liegt von Shen (118) vor. Bang (5) bestimmte spektrographisch nach Dünnschichtchromatographie.

METHODE DER DÜNNSCHICHTCHROMATOGRAPHIE NACH WALDI (138), FÜR DIE UNTERSUCHUNG VERWENDETE METHODE

Geräte und Apparaturen:

Grundausrüstung für die Dünnschichtchromatographie nach Stahl (Fa. Desaga, Heidelberg): Abzugsvorrichtung, Trockenschrank, Vakuumverdampfanlage, Anlage zum Schütteln von Spitzgläsern im Wasserbad, Stickstoffflasche, 100 ml-Erlenmeyer-, 50 und 250 ml-Rundkolben, 10 ml- und 30 ml-Meßzylinder, Glasrichter Ø 3, 4, 5 und 6 cm, Faltenfilter Ø 9 und 11 cm, 250 ml-Scheidetrichter, Spitzgläser, Sprüher, Pipetten 0,5, 2 und 5 ml.

Spezialreagentien:

Merck für den Cyclustest nach Dr. Waldi (138):

150 ml Cyclohexan	Spezialsorte Merck
100 ml Chloroform	"
2 ml konzentrierte Salzsäure (1.19)	"
50 ml Natronlauge 1 n	"
10 ml Aceton	"
25 g Kieselgel G für Dünnschicht- chromatographie nach Stahl	"
25 g o-Phosphorsäure	"
1,5 g Phosphormolybdänsäure	"
20 ml Äthanol 96 Vol. % Reag. DAB 6	"
10 ml Pregnan-3 α -20 α -diol-Lösung 0,25 %ig	2

Arbeitsgang:

Die Bestimmung des Pregandiols erfolgt in zwei Arbeitsgängen:

1. Hydrolyse und Extraktion und
2. die quantitative Bestimmung.

1. Hydrolyse und Extraktion des Pregandiols aus dem Urin

Vom 24-Stunden-Sammelurin wird eine Durchschnittsprobe von 10 ml filtriert. Der filtrierte Urin wird in einen 50 ml Rundkolben gegeben und mit Aqua bidest. auf 20 ml verdünnt. Hierzu werden 2 ml Salzsäure (1.19) gegeben. Dieses Gemisch wird im Abzug im kochenden Wasserbad schnell

(in 2 - 3 Minuten) auf 90°C erhitzt und 10 Minuten lang bei dieser Temperatur hydrolysiert. Anschließend wird das Reaktionsgemisch sofort mit fließendem Wasser auf Zimmertemperatur abgekühlt und in einen 250 ml-Scheidetrichter übergeführt. Mit je 25 ml Cyclohexan wird das Gemisch dreimal ausgeschüttelt. Es bilden sich exakt trennbare Phasen. Bei Emulsionsbildung werden 2-3 ml 1 n NaOH dazugegeben. Die vereinigten Cyclohexanextrakte werden zweimal mit je 30 ml 1 n NaOH und anschließend zweimal mit je 30 ml Aqua bidest. durch Ausschütteln gereinigt. Die abgelassene Natronlauge und das Waschwasser werden verworfen. Das im Cyclohexanextrakt verbliebene Wasser wird mit getrocknetem Natriumsulfat abgebunden und durch einen Faltenfilter in einen 250 ml-Rundkolben überfiltriert. Der Extrakt wird im Wasserbad bei 50°C unter Vakuumabzug eingedampft. Der verbliebene Niederschlag wird mit wenigen ml Chloroform durch einen Glastrichter mit Wattefilter in ein Spitzglas quantitativ übergeführt und bei 50-60°C unter Schütteln und leichtem Abblasen der Chloroformdämpfe durch einen Stickstoffstrom restlos zur Trockene eingedampft.

2. Quantitative Bestimmung des Pregnandiols durch die Dünnschichtchromatographie

Fünf Glasplatten werden mit einem dünnflüssigen Brei aus 20 g Kieselgel G und 40 ml Aqua bidest. mit einem Streichgerät bestrichen und anschließend 30 Minuten lang im Trockenschrank bei 110°C getrocknet. Die Platte wird durch Ritzen der Kieselgelschicht in gleichmäßige, streifenförmige Felder geteilt. Mit der Agla-Spritze, die in einem Gerät zum Auftragen der Flüssigkeiten eingespannt ist, werden am Fußpunkt der Felder eine Vergleichssubstanz und der gewonnene Extrakt aufgetragen. Die Vergleichssubstanz ist eine 0,25 %ige Pregnan-3 α , 20 α -diol-Lösung in absolutem Alkohol, wobei 1 γ Pregnandiollösung 2' der Testsubstanz entsprechen. Aus den Spitzgläsern werden die eingedampften Extrakte in 0,5 ml Chloroform gelöst und mindestens zweimal in verschiedenen Mengen auf die Platte aufgetragen. Die Platte wird eine Stunde in eine feuchte Kammer zur aufsteigenden Chromatographie gebracht. Die Kammer besteht aus einem mit einer Glasplatte abgedeckten Glastrog, der mit 100 ml eines Chloroform-Aceton-Gemisches im Verhältnis 80 : 20 gefüllt ist. Danach wird die Platte zum Anfärben mit 40 Gew.-%iger o-Phosphorsäure bis zur Transparenz besprüht und im Trockenschrank bei 110°C 45-60 Minuten lang getrocknet. Dabei entstehen unterschiedlich intensiv braun gefärbte Flecken. Durch Vergleich mit der in bekannter Konzentration aufgetragenen Testsubstanz wird dann der Pregnandiolgehalt der Extrakte ermittelt. Zur Sicherung der Auswertung und um Störsubstanzen auszu-

schließen, wird die Platte anschließend mit Phosphormolybdänsäure (1,5 % Äthanol) besprüht, wobei sich das Pregnandiol dunkelblau färbt und danach ein zweites Mal ausgewertet. Die Auswertung beruht auf dem R_f -Wert der Platten mit $\text{o-H}_3\text{PO}_4$, Phosphormolybdän, der Fluoreszenz bei $340 \text{ m}\mu$ und dem Vergleich von bekanntem mit unbekanntem mitgelaufenem Pregnandiol.

ERGEBNISSE DER UNTERSUCHUNGEN

Für die Untersuchung wurden Urine gesunder Schwangerer und Wöchnerinnen verwendet, die die Schwangerenberatung aufsuchten beziehungsweise zur Entbindung kamen. Einige waren Haus- oder Klinikangestellte. Frauen, die unter einer medikamentösen Behandlung standen, wurden von den Untersuchungen ausgeschlossen. Eine Auswahl hinsichtlich Alter, Erst- oder Mehrfachschwangerschaft wurde nicht getroffen.

Von dem gesammelten 24-Stunden-Urin wurde nach Messung der Gesamtmenge eine Durchschnittsprobe eingefroren. Doppelbestimmungen zum Vergleich zwischen eingefrorenem und frisch verarbeiteten Urinen brachten gleiche Ergebnisse. Ebenso traten keine Unterschiede beim Auftauen bei Zimmertemperatur (18-22°C) oder im Wärmebad (25-30°C) auf.

Die Bestimmung des Pregandiols erfolgte durch die Dünnschichtchromatographie nach Waldi (138). Insgesamt wurden 111 Bestimmungen durchgeführt.

Zur Datenbeschreibung wurden für die Werte jedes Schwangerschaftsmonats Durchschnittswert und Standardabweichung des Mittelwertes berechnet ($\bar{x}$, $s_{\bar{x}}$). Zur Prüfung auf Unterschiede der Ausscheidung zwischen verschiedenen Schwangerschaftsmonaten wurde der t-Test für verbundene Stichproben angewandt. Ein Ergebnis wird als signifikant oder "statistisch gesichert" bezeichnet, wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit gleich oder kleiner als 1 % ($P \leq 1\%$), als "statistisch auffällig", wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit zwischen 1 % und 5 % liegt ($1\% < P \leq 5\%$). Bei der Durchführung des t-Testes für verbundene Stichproben konnten selbstverständlich nur verbundene Wertepaare berücksichtigt werden.

Die ermittelten Werte zeigen einen Anstieg der Pregandiolausscheidung während der Schwangerschaft bis zur Geburt und einen steilen Abfall nach der Entbindung im Wochenbett.

Abbildung 1 zeigt eine graphische Darstellung der Pregandiolausscheidung in den einzelnen Schwangerschaftsmonaten und im Wochenbett. Einzelheiten dazu sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Der höchste gefundene Wert lag im X. Schwangerschaftsmonat bei 28,1 mg/Tag, der niedrigste im III. Monat mit 1,2 mg/Tag. Wegen der Streuung der Werte wurde auf eine Aufgliederung nach Schwangerschaftswochen verzichtet. Bei allen auffällig vom Mittelwert abweichenden Ergebnissen wurden Mehrfachbestimmungen durchgeführt. Bei den Untersuchten handelte es sich um intakte,

Die Progesteronausscheidung in der normalen Schwangerschaft und im Wochenbett
(in mg/Tag)

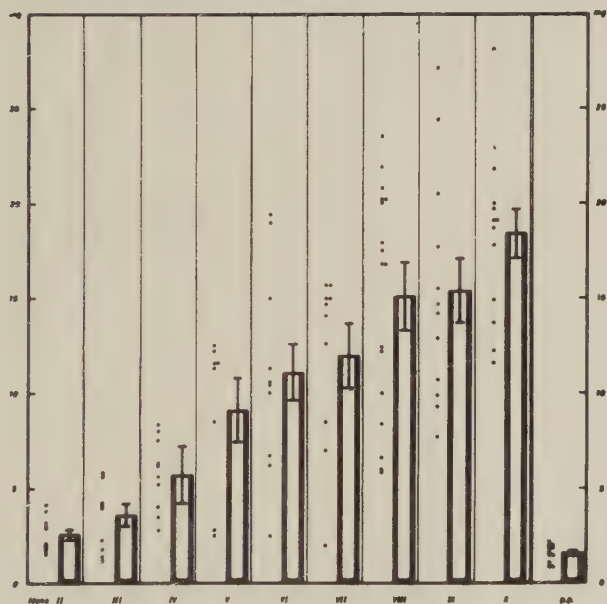


Abb. 1 Durchschnittswerte und Standardabweichungen des Mittelwertes als Rechtecke bzw. Strecken, Einzelwerte als Punkte eingezeichnet.

Tabelle 1: Die Pregnandiolausscheidung in der normalen Schwangerschaft und im Wochenbett (in mg/Tag)

Nr.	Schwangerschaftsmonat									
	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	Wo
1	2,9	4,2	8,3	11,3	10,0	14,7	10,0	15,5	19,1	1,5
2	3,0	5,8	2,8	11,6	6,7	12,6	12,4	12,9	19,1	2,2
3	3,2	4,0	5,2	12,2	11,3	2,0	12,2	20,5	18,7	2,0
4	2,1	5,7	3,5	8,5	10,4	15,7	17,9	7,7	13,7	2,0
5	3,8	2,3	5,6	2,8	2,5	15,0	5,9	17,7	22,9	1,9
6	1,9	1,2	6,2	2,5	10,6	7,0	6,6	27,1	12,2	1,9
7	2,0	4,1	4,0	11,6	19,4	14,1	20,8	14,2	19,7	1,1
8	1,6	1,4	7,5	12,5	15,0	8,5	8,4	24,4	28,1	0,9
9	1,8	1,8	6,3		6,2	15,7	15,5	10,7	21,8	0,9
10	4,1	5,6	8,0		19,0	15,0	20,2	14,7	20,0	1,5
11							20,2	9,9	11,6	1,6
12							16,8	9,3	17,8	
13							23,5		14,9	
14							21,9			
15							6,0			
16							20,0			
17							16,8			
n	10	10	10	8	10	10	17	12	13	11
$\bar{x}$	2,6	3,6	5,7	9,1	11,1	12,0	15,1	15,4	18,4	1,6
$\frac{+s}{x}$	0,28	0,57	0,60	1,47	1,72	1,47	1,65	1,75	1,27	0,14

n = Anzahl der Fälle

$\bar{x}$ = Mittelwert

$\frac{+s}{x}$ = Standardabweichung des Mittelwertes

klinisch bestätigte Schwangerschaften. Trotz der unterschiedlichen Ausscheidungswerte in den einzelnen Monaten und innerhalb eines Monats läßt sich ein signifikanter Anstieg der ausgeschiedenen Pregnanliolmenge innerhalb der Schwangerschaft nachweisen.

Tabelle 2 zeigt die Signifikanzen der Ausscheidung von Pregnanliol beim Vergleich zwischen verschiedenen Schwangerschaftsmonaten sowie zum Wochenbett.

Die individuellen Schwankungen der Ausscheidung bei der Bestimmung an zwei aufeinanderfolgenden Tagen waren gering, wurden jedoch bei der Aufstellung der Tabellen nicht berücksichtigt.

Die Streubreite der ermittelten Werte war im ersten Drittel der Gravidität geringer als später.

Im Wochenbett schieden die Untersuchten im Vergleich zum zweiten Schwangerschaftsmonat im Durchschnitt eindeutig weniger Pregnanliol aus. Der Rückgang der Ausscheidung trat sofort nach der Geburt ein. Wegen der schwierigen Aufbereitung der Urine durch die Blutbeimengung wurden die Untersuchungen zwischen dem dritten und siebenten Tag post partum durchgeführt. Auffällig ist die geringe Streubreite der ermittelten Werte im Wochenbett, die zwischen 0,9 und 2,2 mg/Tag lagen.

Signifikanz des Vergleichs zwischen den einzelnen Monaten der Schwangerschaft beziehungsweise zum Wochenbett

Schwangerschaftsmonate	Signifikanz des Vergleichs ⁺⁾
II : VIII	+
II : IX	+
II : X	+
II : Wo ⁺⁺⁾	+
VIII : IX	-
IX : X	-

Tabelle 2 ⁺⁾

+ = signifikant ($P \leq 1\%$)

- = nicht signifikant ($1\% < P$)

⁺⁺⁾

Wochenbett

DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Das im Harn nachweisbare Pregnandiol, das vornehmlich der Glucuronsäure-ester des Pregnan-3 α , 20 α -diol und zu einem kleineren Anteil von Allopregnan-3 α , 20 α -diol ist, entsteht als Abbauprodukt von Progesteron (Crepay (29), Davis (31), Kaufmann (66)). Die Bildung erfolgt in den Ovarien, der Nebennierenrinde und der Plazenta (Balfour (4), Borth (10), Ejarque (40), Erb (41), Hammerstein (52), Pasetto (100), Russell (115), Zander (149), (154)). In der Schwangerschaft findet sich mit zunehmend größer werdender Plazenta eine steigende Ausscheidung von Pregnandiol (Kaufmann (66), de Watterville (139)). Gleichzeitig steigt die Ausscheidung der gonadotropen Hormone und des Oestrogens (Buttenberg (23), Dokumenta Geigy (38), Loraine (85), Lukkainen (87)). Die Hormonbildung der Plazenta genügt, um bei Ausfall der Ovarien und der Hypophyse einen Abort zu verhindern. Dieser embryonale Selbstschutz des Menschen in der späteren Schwangerschaft stellt unter den Mammalia einen Ausnahmefall dar. (Nur noch bei Pferd und Meerschweinchen bekannt (Dokumenta Geigy (38))). Die Überprüfung der Pregnandiolausscheidung in der normalen und der gestörten Schwangerschaft erscheint daher als ein wichtiger Anhaltspunkt zur Kontrolle des Hormonhaushaltes.

Die in der vorliegenden Arbeit gefundenen Werte wurden durch die Dünnschichtchromatographie nach Waldi (138) bestimmt. Die Methode bietet eine ausreichend exakte Bestimmung des Pregnandiols im Urin. Die Wiederauffindungsrate beträgt 80-85 %, bei eingesetzten kleineren Pregnandiolmengen weniger (Waldi (138)). Aus Wasser lassen sich durch die angegebene Methode 90 % zurückgewinnen. Bei 10 Minuten langem Erhitzen auf 90°C und Zusatz 10%-iger konzentrierter Salzsäure wurden 65-70 % des zugesetzten Pregnandiols zerstört. Die Wiederauffindung von 80-85 % bei pregnandioffreiem Urin läßt nach Waldi (138) auf das Vorhandensein schützender Begleitstoffe im Urin schließen. Die Versuchsdauer bei den eigenen Versuchen betrug für eine Bestimmung zwei bis drei Stunden. Dabei konnten jedoch in einem Teil des jeweiligen Arbeitsganges zwei Urine zur gleichen Zeit aufbereitet werden, wodurch eine ausreichende Übersicht gegeben war.

Die Betrachtung der einzelnen Ergebnisse der vorliegenden Arbeit (siehe Tabellen 1 und 2) zeigen in Übereinstimmung mit den Arbeiten anderer Autoren (Béthoux (8), Bradshaw (13), Chaug Shen (24), Deshpande (32), Guercia (47), Hooker (60), Jayle (63), Kaufmann (66), Klopfer (70), (71), Lachèse (74), Shen (119), Semmous (120), de Wat-

teville (139), Zander (153), (156)) einen Anstieg der ausgeschiedenen Pregnandiolmenge im Urin während der Schwangerschaft, die statistisch gesichert ist. Die Abweichungen der Einzelwerte entsprechen den Streubreiten, die auch bei anderen Untersuchungsmethoden gefunden wurden (Borth (10), Bradshaw (13), Burthiault (16), Jayle (63), Louros (86), Michie (91), Piccioni (103), Shen (119), Semmous (120), de Watteville (139), Zander (156)). Nach Zander (151) bleiben die Unterschiede der Ausscheidung beim Vergleich gleicher Einzelpersonen gering. Die Schwankungen der Progesteronsekretion könnten nach Landau (80) wichtig für die Erhaltung des Elektrolytgleichgewichtes während der Schwangerschaft sein. Im Plasma soll nach Dignam (36) kein Pregnandiolanstieg während der Schwangerschaft nachweisbar sein.

Arbeiten über den Pregnandiolgehalt verschiedener Gewebe liegen von Zander (153), (154) vor. Schwankungen durch Nebennierenrindenhyperplasie (Keller (69), Kyle (73), Southren (124)) oder Abfall bei intrauterinem Fruchttod (Dibbelt (33), Kaiser (65)) beziehungsweise bei Morbus Addison (Jailer (62), Landau (79)) oder Adrenalektomie (Venning (135)) sind bekannt, durften aber bei den vorliegenden Ergebnissen unberücksichtigt bleiben, da nur gesunde Schwangere untersucht wurden. Das gleiche trifft für das Absinken des Pregnandiols bei eiweißhaltigem Urin (Bradbury (12), Würterle (148)) zu. Nach der Geburt fallen die ausgeschiedenen Pregnandiolmengen steil ab (Deshpande (32), Nakajima (94)). Die Streuung dieser Werte liegt in engeren Grenzen, da neben dem Ovar für die Progesteronbildung hauptsächlich die Nebenniere in Frage kommt (Herzmann (57), Keller (69), Zander (149)), wie die angeführten Stoffwechseluntersuchungen zeigen. Daher ist auch im Urin von Männern (Herzmann (57), Keller (69)) und bei Frauen in der Menopause (Herzmann (57), Keller (69), Tonconi (132), Zander (151)) Pregnandiol nachweisbar. Ungeklärt ist die Frage der fehlenden Ausscheidung bei Neugeborenen Zander (150)). Staemmler (125) vermutet, daß das von ihm nachgewiesene Pregnandiol aus dem Stoffwechsel der Mutter stammt und in den ersten Tagen ausgeschwemmt wird.

In neueren Arbeiten wurde die dünn-schichtchromatographische Bestimmung durch die Absorption im Infrarotspektrum überprüft (Schneider (117)). Dabei stellte sich die Zuverlässigkeit der Methode bei allen Versuchen heraus (Szereday (130)). Ein Vergleich mit den bekannten differenzierten Methoden läßt keine Nachteile erkennen. Keller (68) konnte bei 5000 untersuchten Fällen noch 0,5 mg/Liter nachweisen.

Aufgrund der eigenen Untersuchungen läßt sich abschließend feststellen, daß eine Überwachung des Hormonhaushaltes in der normalen Schwangerschaft, im Wochenbett sowie im mensuellen Cyclus (H a c k e l (50)) durch die dünn-schichtchromatographische Bestimmung des Pregnandiols im Urin nach W a l - d i (138) in verhältnismäßig einfacher Weise möglich ist.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Ausscheidung von Pregnandiol wird durch die Dünnschichtchromatographie in der normalen Schwangerschaft und im Wochenbett bestimmt.

Ein im Mittel kontinuierlicher Anstieg in den einzelnen Monaten bis zur Geburt und der Abfall post partum konnten mit der weniger zeitraubenden Methode nach Waldi (138) statistisch gesichert nachgewiesen werden.

Der Stand der Frage, die chemischen, biologischen und methodischen Tatsachen des Progesteronstoffwechsels werden erläutert.

Der Vergleich mit bekannten älteren Ergebnissen wird diskutiert.

LITERATURNACHWEIS

1. Acros, M., E. Gurdip, R.L. Van de Wiele, S. Liebermann
"Precursors of urinary pregnanediol and their influence on the determination of the secretory rate of progesterone."
J.Clin.Endocr., Springfield 24, 237-245 (1964)
2. Allen, W.M. und G.W. Corner
"Physiology of Corpus luteum. VII. Maintenance of pregnancy in rabbit after very early castration, by corpus luteum extracts."
Proc.Soc.Exper.Biol. 27, 403-405 (1930)
3. Ammon, R. und W. Dirscherl
"Fermente, Hormone, Vitamine und die Beziehungen dieser Wirkstoffe zueinander."
Dritte erweiterte Auflage in 3 Bänden, Bd.II, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1960
4. Balfour, W.E., R.S. Comline und R.V. Short
"Secretion of progesterone by the adrenal gland."
Nature and Health, London 180, 1480-1481 (1957)
5. Bang, H.O.
"A simplified method for the quantitative determination of pregnanediol in urine."
J.Chromatogr. 14, 520 (1964)
6. Bengtsson, L.Ph., Ejarque, P.
"Production rate of progesterone in human pregnancy."
Acta endocr., K'hvn. 117 (1962) Suppl. 67
7. Berliner, M.L., D.L. Berliner und Th.F. Dougherty
"Metabolism of progesterone by adrenal tissue from patients with Cushing's syndrome and mammary carcinoma."
J.Clin.Endocr., Springfield 18, 109-114 (1958)
8. Béthoux, R.
"Nouvelle technique de dosage du "pregnandiol" pendant le cycle mensuel et la grossesse."
Ann.Endocrin. 14, 56-60 (1953)

9. Bianchi, P.
"Sal dosaggio del pregnandiolo urinario nelle portatrici di fibromioma uterino."
Minerva ginec., Torino 2, 33-35 (1953)
10. Borth, R.
"Elimination du prégnerdiol en cours de la grossesse."
Gynéc. et obstétr., Paris 53, 27-41 (1954)
11. Bougiovanni, A.M.
"The detection of pregnanediol and pregnantriol in the urine of patients with adrenal hyperplasia, suppression with cortisone. A preliminary report."
Bull. Johns Hopkins Hosp. 92, 224-251 (1953)
12. Bradbury, J.T. und T.H. Kent
"Protein influence of pregnanediol recovery."
Endocrinology (Springfield) 60, 162-164 (1957)
13. Bradshaw, T.E.T. und W.J.E. Jessop
"The urinary excretion of oestrogens and pregnanediol at the end of pregnancy, during labor and during the early puerperium."
J. Endocr. (Oxford) 9, 427-439 (1953)
14. Burger, H. und W. Kunz
"Über die Beeinflussung des Endometriumstoffwechsels durch Progesteron."
Arch. Gynäk. 179, 660-671 (1951)
15. Burger, H. und W. Kunz
"Der Einfluß des Progesterons auf die Atmung verschiedener Organe der Maus und auf menschliches Myometrium."
Arch. Gynäk. 179, 672-676 (1951)
16. Burthiault, R.
"Quelques réflexions à propos des dosages hormonaux au cours de l'état gravidique."
Rev. franç. gynéc. 48, 206-212 (1953)
17. Butenandt, A.
"Progynon, kristallisiertes weibliches Sexualhormon."
Zschr. Angew. Chemie 43, 95 (1930)
18. Butenandt, A.
"Untersuchungen über das weibliche Sexualhormon."
Mathem.-naturwiss. Abh. III. Folge 2, 1-96 (1931)

19. Butenandt, A.
"Isolierung und Charakterisierung des Corpus luteum Hormons."
Ber. Dtsch. Chem. Gesellsch. 1440 (1934)
20. Butenandt, A. und U. Westphal
"Darstellung des Corpus luteum-Hormons aus Stigmasterin; die Konstitution des Hormons."
Ber. Dtsch. Chem. Gesellsch. 2085 (1934)
21. Butenandt, A. und J. Schmidt
"Überführung des Pregnandiols in Corpus luteum-Hormon."
Ber. Dtsch. Chem. Gesellsch. 1901-1904 (1934)
22. Butenandt, A.
"Ergebnisse und Probleme in der biochemischen Erforschung der Keimdrüsenhormone."
Naturwissenschaften 34/35, 527-536 und 545-552 (1936)
23. Buttenberg, D.
"Gelbkörper-Hormontherapie - ein Leitfaden für die tägliche Praxis."
Medizinisch-naturwissenschaftliche Veröffentlichung im Blaschker-Verlag GmbH, Berlin 1966, S.17-19
24. Chaug Shen, N.H., M.B. Katzman, F.E. Francis und R.A. Kinsella jr.
"Determination of pregnanolone, pregnanediol and pregnanetriol in urine."
J. Laborat. Clin. Med., St. Louis 61, 174-182 (1963)
25. Clauberg, C.
"Biologischer Test für das Corpus luteum-Hormon."
Klin. Wschr. 9, 2004 (1930)
26. Cohen, S.L. und G.F. Marrian
"Hydrolysis of the combined forms of oestrone and oestriol present in human pregnancy urine."
Biochem. J., London 29, 1577-1585 (1936)
27. Corner, G.W. und W.M. Allen
"Product of a special uterine react (Progestional proliferation) by extracts of the "corpus luteum". "
Amer. J. Physiol. 86, 74 (1928) und 88, 326-339 (1929)

28. Coyle, M.G., M.Greig und J.Walker
"Blood-progesterone and urinary pregnanediol and oestrogens in foetal death from severe pre-eclampsia."
Lancet, London 62, 275-277 (1962)
29. Crepy, O., O.Judas, F.Rulleau-Meslin, M.F.Jayle
"Mode de conjugaison des métabolites de la progestérone dans les urines de femmes enceintes."
Bull.Soc.chim.biol., Paris 44, 327-336 (1962)
30. Cuyler, W.K., C.Ashley und E.C.Hamblen
"Urinary excretion of Pregnandiol complex by males."
Endocrinology (Springfield) 27, 177-178 (1940)
31. Davis, M.E., E.J.Plotz, G.V.Le Roy, R.G.Gould und H.Werbin
"Hormones in Human "reproduction". I. Metabolism of Progesterone."
Ann.Inst.obstetr.gynaec., Helsinki 72, 740-755 (1956)
32. Deshpande, G.N., I.F.Sommerville
"Plasma Pregnanediol in human pregnancy."
Lancet, London Vol.2, 1046-1047 (1958)
33. Dibbelt, L.
"Schwangerschaftsunterbrechung bei endocrinen Störungen. Zur Frage der klinischen Bedeutung quantitativer Pregnandiolbestimmungen im Urin."
Med.Klin. 33, 1707-1708 (1952)
34. Dibbelt, L. und R.Buchholz
"Beziehungen zwischen der Ausscheidung von Pregnandiol im mensuellen Zyklus und dem histologischen Bild des Endometriums sowie des Ovars."
Geburtsh. u. Frauenhk. 13, 604-613 (1953)
35. Diczfalusy, E. und U.Borell
"Influence of oophorectomy on steroid excretion in early pregnancy."
J.Clin.Endocr., Springfield 21, 1119-1126 (1961)
36. Dignam, W., J. und M.Henley
"Progesterone requirements in pregnancy."
West.J.Surg., Portland 69, 305-307 (1961)
37. Djerassi, C.
J.Amer.Chem.Soc. 73, 1523 (1951)
zit. nach Hanč (54)

38. Documenta Geigy
Wissenschaftliche Tabellen, 6. Auflage, J.R. Geigy A.G. Basel, Pharmazeutische Abteilung, Redaktion: Konrad Diem, S. 467-468
39. Editorial
"Induction of ovulation."
Brit. Med. J. 5324, 136-138 (1963)
40. Ejarque, P.M. und L.P. Bentsson
"Production rate of progesterone in human midpregnancy."
Acta endocr., K'hvn. 41, 521-530 (1962)
41. Erb, H., M. Keller und R. Wenner
"Hormonausscheidung bei fortgeschrittener Abdominalgravidität."
Gynaecologia (Basel) 157, 129-134 (1964)
42. Fevold, H.L. und F.L. Hisaw
"Hormones of the corpus luteum. The separation and purification of three active substances."
J. Amer. Chem. Soc. 54, 254-263 (1934)
43. Fischer, R.H. und Ch.L. Riley
"Pregnanediol excretion in a mesen linizing syndrome."
J. Clin. Endocr. (Springfield) 12, 890-900 (1952)
44. Fotherby, K.
"The ovarian production of a pregnanetriol precursor."
J. Endocr. (London) 25, 19-28 (1962)
45. Goldzieher, J.W. und Y. Nakamora
"A clinical method for the determination of urinary pregnanediol and pregnanetriol."
Acta endocr., K'hvn. 41, 371-380 (1962)
46. Grady, H.J., W.H. Elliott, E.A. Doisy jr., B.C. Bocklage und E.A. Doisy
"Synthesis and metabolic studies of progesterone-21-C¹⁴."
J. Biol. Chem., Baltimore 195, 755-762 (1962)
47. Guercio, F. und A. Braga
"Significato della pregnandioluria nella splorazione clinica della re-
attitù dei vari regmenti del settore luteotropo."
Ann. ostetr. ginec., Milano 74, 505-517 (1952)

48. Gut, M.
"3 β -Hydroxypregn-4-en-20-one."
J.org.Chem. 21, 1327-1328 (1956)
49. Guterman, H.S.
"A human pregnancy test based upon a color reaction of pregnanediol in the urine."
J.Clin.Endocr. (Springfield) 4, 262 (1944)
50. Hackel, E.
"Dünnschichtchromatographischer Nachweis von Pregnandiol im Harn zur Frühdiagnose der Schwangerschaft und zur Überwachung des Cyclus."
Inaug.Diss., Gießen 1966
51. Hamblen, E.C., W.K.Cuyler und D.V.Hirst
"Urinary excretion of Pregnandiol complex by males."
Endocrinology (Springfield) 27, 169-176 (1940)
52. Hammerstein, I.
"Die hormonalen Korrelationen im biphasischen Menstruationszyklus der Frau."
Zbl.Gynäk. 84, 428-429 (1962)
53. Hammond, K.B.
"The gas chromatography of pregnane series steroids."
Clin.Chim.Acta 11, 584-585 (1965)
54. Hanč, O.
"Hormone."
Fischer-Verlag, Jena 1959
55. Hartmann, M. und A.Wettstein
"Krystallisiertes Hormon aus Corpus luteum."
Acta helv.chim. 17, 878-881 (1934)
56. Heard, R.D.H. und A.F.McKay
"Steroids."
J.Biol.Chem., Baltimore 131, 317-379 (1939)
57. Hermann, J. und Z.K.Stembera
"Pregnandiol excretion in the absence of the placenta or corpus luteum."
Čsl.gynaek. 24/38, 209-213 (1959) - B.Gyn. 68, 223

58. Hisaw, F.L. und R.O.Greep
"Effect of progesterone on the female genital tract after castration atrophy."
Proc.Soc.Exper.Biol. 36, 840 (1937)
59. Hoffman, M.M., V.E.Kazmin und J.S.L.Browne
"The excretion of pregnanediol following the administration of desoxycorticosterone acetate to rabbits."
J.Biol.Chem., Baltimore 147, 259-260 (1943)
60. Hooker, C.W. und T.R.Forbes
"A Bio-Assay for Minute Amounts of Progesterone."
Endocrinology (Springfield) 41, 158 (1947)
61. Huis in 't Veld, L.G.
"The neutral 17-Ketosteroid excretion during the menstrual cycle."
Acta endocr., K'hvn. 33, 494-500 (1960)
62. Jailer, J.W. und A.I.Knowlton
"Simulated Adreno-cortical Activity during Pregnancy in an Addisonian Patient."
J.Clin.Invest. 29, 1430 (1950)
63. Jayle, M.F., O.Crepy und T.Tiprez
"Elimination des Glucuronidates butylorolubles au cours de la grossesse."
Ann.Endocr. 10, 155-161 (1949)
64. Jones, K.M., R.Lloyd-Jones, A.Riondel, J.F.Tait, S.A.S.Tait, R.D.Bulbrook und F.C.Greenwood
"Aldosterone secretion and metabolism in normal men and women and in pregnancy."
Acta endocr., K'hvn. 30, 321-342 (1959)
65. Kaiser, R.
"Die diagnostische Verwertbarkeit von Pregnandiolbestimmungen in der Schwangerschaft."
Geburtsh. u. Frauenhk. 13, 513-524 (1953)
66. Kaufmann, C., U.Westphal und J.Zander
"Untersuchungen über die biologische Bedeutung der Ausscheidungsprodukte des Gelbkörperhormons."
Arch.Gynäk. 179, 247-299 (1951)

67. Kaufmann, C.
"Progesteron, sein Schicksal im Organismus und seine Anwendung in der Therapie."
Klin.Wschr. 33, 345-347 (1955)
68. Keller, M.
"Eine dünnschichtchromatographische Routinemethode zur Bestimmung von Pregnandiol und Pregnantriol in Urinextrakten."
Gynaecologia (Basel) 160, 233-236 (1965)
69. Keller, M. und A.Hauser
"Zur Beurteilung der Pregnandiolausscheidung in der zweiten Zyklushälfte."
Gynaecologia (Basel) 149, 337-342 (1960)
70. Klopfer, A., und W.Billewicz
"Urinary excretion of oestriol and pregnanediol during normal pregnancy."
J.Obstetr.Gynaec.Brit.Comm. 70, 1024-1053 (1963)
71. Klopfer, A. und M.MacNaughton
"Oral progestogens."
Lancet, London 7172, 339 (1961)
72. Koch, M.L.
"The bactericidal action of Beta Progesterone."
Amer.J.Obstetr.Gynec. 59, 168-171 (1950)
73. Kyle, L.H. und C.Hess
"The effect of progesterone and anhydrohydroxyprogesterone on nitrogen balance."
J.Laborat.Clin.Med., St.Louis 47, 278-283 (1956)
74. Lachèse, B., O.Crepy und M.F.Jayle
"Séparation chromatographique et dosage de la pregnanolone."
Clin.Chim.Acta 8m 538-546 (1963)
75. Landau, R.L., D.M.Bergental, K.Lugibihl und M.E.Katsch
"The metabolic effects of progesterone in Man."
J.Clin.Endocr. (Springfield) 15, 1194-1215 (1955)
76. Landau, R.L., M.D.Delbert, M.Bergental, K.Lugibihl und D.Dimick
"The metabolic effects of progesterone in relation to the action of estrogen and pituitary hormones."
J.Clin.Endocr. (Springfield) 16, 931 (1956)

77. Landau, R.L., M.Bergental, K.Lugibihl, D.Dimick und E.Rashid
"The relationship of estrogen and of pituitary hormones to the metabolic effects of progesterone."
J.Clin.Endocr. (Springfield) 17, 177-185 (1957)
78. Landau, R.L., K.Lugibihl, M.Delbert, M.Bergental und D.Dimick
"The metabolic effects of progesterone in Man: Dose response relationships."
J.Laborat.Clin.Med., St.Louis 50, 613-620 (1957)
79. Landau, R.L. und M.L.Laves
"Urinary pregnanetriol of testicular origin."
J.Clin.Endocr. (Springfield) 19, 1399-1404 (1959)
80. Landau, R.L., K.Lugibihl
"The catabolic and natriuretic effects of progesterone in Man."
Recent Progr. Hormone Res., N.Y. 17, 249-292 (1961)
81. Langmade, Ch., S.Notrica, J.Demetriou und A.G.Ware
"Pregnanediol excretion in threatened abortion."
Amer.J.Obstetr.Gynec. 81, 1149-1156 (1961)
82. Leuthardt (-Edelbacher)
"Lehrbuch der physiologischen Chemie."
15.Auflage, Walter de Gruyter u.Co. Berlin 1963
83. Levy, H., R.W.Jealoz, R.P.Jacobsen, O.Hechter, V.Schenker und G.Pincus
"Chemical transformations of steroids by adrenal perfusion - Progesterone, 17 α -Hydroxyprogesterone and pregnen-5-en-3 β -ol-20-on."
J.Biol.Chem., Baltimore 211, 867-881 (1954)
84. Lipp, G.
"Eine neue Methode zur quantitativen Bestimmung von Pregnandiol."
Acta endocr., K'hvn. 33, 501-510 (1960)
85. Loraine, J.A., E.T.Bell
"Hormone excretion during the normal menstrual cycle."
Lancet, London 7295, 1340-1342 (1963)
86. Louros, N.C., K.Miras und L.Frangiadakis
"Die Aldosteron- und Pregnandiolausscheidung im Urin der normalen Schwangerschaft und der Toxicose."
Geburtsh. u. Frauenhk. 20, 848-851 (1960)

87. Lukkainen, T., W.J.A. Vandenheuvel und E.C. Horning
"An estrogen determination method using gas chromatography."
Biochim. biophysica acta, N.Y. 62, 153-159 (1962)
88. Maeyama, M., H. Veda, T. Negoro, Y. Nakano und I. Kariga
"The progesterone metabolism in toxemia and hydatidiform mole."
Wakayama Med. Rep. 5, 93-99 (1960) - B. Gyn. 73, 310
89. Marrian, G.F.
"The chemistry of Oestrin: I. Preparation from an unidentified solid alcohol."
Biochem. J., London 23, 1090-1098 (1929)
90. Marrian, G.F.
"The chemistry of Oestrin: II. Methods of purification."
Biochem. J., London 23, 1233-1241 (1929)
91. Michie, E.
"Urinary pregnanediol excretion in normal pregnancy."
Amer. J. Obstetr. Gynec. 60, 561-564 (1953) - B. Gyn. 52, 86
92. Milliez, P. und D. Fritel
"Les éliminations hormonales au cours des toxémies gravidiques."
Gynéc. et obstétr., Paris 53, 114-131 (1954)
93. Molen, H.J. van der
"5 β -Pregnane-3 α -ol-20-one in urine."
Acta endocr., K'hn. 41, 247-258 (1962)
94. Nakajima, T.H., J. Staemmler und G. Lipp
"Untersuchungen über die Pregnandiolausscheidung neugeborener Knaben."
Klin. Wschr. 38, 389-391 (1960)
95. Neuhaus, L.
"Die Rolle der Uterusschleimhaut bei der Umwandlung des Progesterons in Pregnandiol."
Zbl. Gynäk. 74, 609-614 (1952)
96. Ober, W.B. und G.A. Kaiser
"Pregnanediol. Methods, limitations and applications."
Amer. J. Clin. Path. 35, 297-318 (1961)
97. Odell, A.D. und G.F. Marrian
"Note on presence in human pregnancy urine of an acid-hydrolysable

- combined form of pregnanediol."
Biochem.J., London 30, 1533 (1936)
98. Oertel, G.W. und E.Kaiser
"Quantitative Bestimmung von Pregnanediol."
Klin. Wschr. 39, 492 (1961)
99. Pannain, A.
"L'eliminazione del pregnandiolo nelle gravidanze molarì."
Arch.Ostetr.Ginec. 57, 276-290 (1952)
100. Pasetto, N., L.Stura und A.Franceschelli
"Il pregnandiolo nel ciclo mestruale normale."
Arch.Ostetr.Ginec. 74, 697-702 (1952)
101. Patti, A.A., Ph.Bonnano, Th.F.Frawley und A.A.Stein
"Preliminary studies on the application of gas phase chromatography to reperatio and identification of steroids in biological fluids."
Acta endocr., K'hvn. Suppl. 77, 42 (1963)
102. Pearlman, W.H. und G.Pincus
"The metabolism of pregnenolone."
Fed.Proc. Washington 5, 79-80 (1946)
103. Piccioni, V.
"L'eliminazione urinaria del pregnandiolo nella mola vesicolare."
Boll.Soc.ital.biol.sper., Napoli 28, 259-261 (1952), B.Gyn. 48, 239
104. Pickett, M.T., und I.F.Sommerville
"Urinary excretion of pregnanetriol in the menstrual cycle. II. Concurrent assay of other urinary steroids in ovulatory cycles."
Acta endocr., K'hvn. 41, 135-142 (1962)
105. Pivel, E. und J.Schwartz
"Le prégnandiol urinaire: origine et dosage."
Bull. Féd.soc.Gynéc. et Obstétr. 5, 486-487 (1953)
106. Plotz, E.J., M.Wiener und M.E.Davis
"Effect of administered progesterone on urinary excretion of endogenous pregnanediol in pregnancy."
Amer.J.Obstetr.Gynec. 87, 1-7 (1963)

107. "Progynon B forte"
deklariert nach "Internationalen Benzoat-Einheiten".
Med.Mitteil. 198, 200-203 (1935)
108. Quilligan, E.J. und I.Rothchild
"Rate of pregnanediol excretion following intraportal or intrasystemic
intravenous administration of progesterone in human subjects."
J.Clin.Endocr. (Springfield) 17, 595-602 (1957)
109. Raman, P.B.
"A method for the determination of pregnanediol, pregnanetriol and
pregnanetriolone by gas chromatography."
Steroid 6, 177-194 (1965)
110. Rawlings, W.J. und V.I.Krieger
"Pregnanediol excretion in multiple pregnancy."
Med.J.Anat. 47, 297-299 (1960)
111. Reimann-Hunziker, R. und W.Wild
"Die Pregnandioldbestimmung als Mittel zur Empfängnisregelung."
Münch.med.Wschr. 103, 1264-1266 / 1300-1303 (1961)
112. Reimann-Hunziker, R.
"Pregnanedioldbestimmung als Mittel der Empfängnisregelung."
Gynaecologia (Basel) 152, 86-90 (1961)
113. Rogers, J. und F.McLellan
"Isolation of pregnanediol from human bile after oral administration
of progesterone."
J.Clin.Endocr. (Springfield) 11, 246-250 (1951)
114. Rothchild, I.
"Effect of large doses of intravenously administered progesterone on
gonadotropine excretion in the human female."
J.Clin.Endocr. (Springfield) 17, 754-759 (1957)
115. Russell, C.S., C.J.Dewhorst und O.H.Blakey
"The pregnandiold excretion in suspected placental insufficiency."
J.Obstet.Gynec.Brit.Emp. 67, 1-10 (1960)
116. Sandberg, A.A. und W.R.Slaunwhite
"The metabolic fate of C¹⁴-progesterone in human subjects."
J.Clin.Endocr. (Springfield) 18, 253-265 (1958)

117. Schneider, H.P. und Z.Szereday
"Vorläufige Mitteilung über eine quantitative dünn-schichtchromatographische Bestimmungsmethode von Pregnandiol."
Klin. Wschr. 43, 747-748 (1965)
118. Shen, N.H.Ch., F.E.Francis und R.A.Kinsella
"Thin-layer chromatography of 17-ketosteroids, pregnanediol and pregnanetriol in urine."
J.Laborat.Clin.Med., St.Louis 60, 1017-1018 (1962)
119. Shen, N.H.Ch., M.B.Katzmann, F.E.Francis und R.A.Kinsella jr.
"Determination of pregnanolone, pregnanediol and pregnanetriol in urine."
J.Laborat.Clin.Med., St.Louis 61, 174-182 (1963)
120. Semmous, E.M., M.A. und E.W.McHenry
"Urinary pregnanediol determination as a test of pregnancy."
J.Clin.Endocr. (Springfield) 9, 852-861 (1949)
121. Simmer, H. und J.Simmer
"Progesteron im peripheren Venenblut von Schwangeren und Spätgestosen."
Klin. Wschr. 37, 971-975 (1959)
122. Slotta, K.H., H.Ruschig und E.Fels
"Hormone des Corpus luteum."
Acta helv.chim. 17, 1361 (1934)
123. Sommerville, J.F. und G.F.Marrian
"Urinary excretion of pregnanediol in human subjects following the administration of progesterone and of pregnane-3 α -20 α -diol."
Biochem.J., London 46, 285-296 (1950)
124. Southren, A.L., A.Saito, A.Laufer und L.J.Souffer
"Urinary hormone studies in untreated congenital adrenal hyperplasia during and after pregnancy."
J.Clin.Endocr. (Springfield) 21, 675-683 (1961)
125. Staemmler, H.J.
"Die endocrinen Beziehungen zwischen Mutter und Frucht."
Klin. Wschr. 38m 97-103 (1960)
126. Stahl, E.
"Dünnschicht-Chromatographie".
Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg 1962

127. Stark, G. und H.Kossmann
"Die Ausscheidung von Aldosteron, Natrium und Kalium nach fortlaufender hoher Progesterongabe."
Acta endocr., K'hvn. 42, 537-551 (1963)
128. Stimmel, B.F., J.D.Randolph und W.M.Conn
"A procedure for concomitant photometric estimation of pregnanediol and estrogens in human urine."
J.Clin.Endocr. (Springfield) 12, 371-384 (1952)
129. Sturm, A.
"Grundbegriffe der Inneren Medizin."
Gustav-Fischer-Verlag, Stuttgart 1963, S.366
130. Szereday, Z. und H.P.G. Schneider
"Ein Beitrag zur Analyse von Pregnandiol."
Klin.Wschr. 43, 816-819 (1965)
131. Taylor, F.B. jr.
"Histochemical changes in the ovaries of normal and experimentally treated rats."
Acta endocr., K'hvn. 36, 361-374 (1961)
132. Tonconi, G.
"Progesterone e steroidi urinari studio sui rapporti metabolici in pazienti ginecologiche disfunzionali con particolare riguardo ai metaboliti del pregnano."
Ann.ostetr.ginec. Milano 79, 179-199 (1957)
133. Ungar, F., R.H.Dorfman, R.M.Stecher und P.J.Vignos jr.
"Metabolism of the steroid hormones, metabolism of progesterone and related steroids."
Endocrinology (Springfield) 49, 440-448 (1951)
134. Venning, E.H. und J.S.L.Browne
"Studies of corpus luteum function. 1. The urinary excretion of sodium pregnanediol glucuronidate in the human menstrual cycle."
Endocrinology (Springfield) 21, 711-721 (1937)
135. Venning, E.M. und J.S.L.Browne
"Isolation of a water-soluble pregnandiol complex from human pregnancy urine."
Proc.Soc.Exper.Biol. 34, 792 (1936)

136. Venning, E.H., S.Sybulski, V.E.Pollak und R.J.Ryan
"Aldosterone excretion in two adrenalectomized pregnant women."
J.Clin.Endocr. (Springfield) 19, 1486-1491 (1959)
137. Wade, R. und H.W.Jones jr.
"Effect of progesterone on oxydative phosphorylation."
J.Biol.Chem., Baltimore 220, 553-562 (1956)
138. Waldi, D.
"Einfache quantitative Schnellbestimmung von Pregnandiol auf Dünnschichtplatten zum Frühschwangerschaftsnachweis und zur Überwachung des Zyklus bei der Frau."
Klin.Wschr. 40, 827-830 (1962)
139. Watteville, de, H.
"Pregnanediol determinations in the clinic and in research".
J.Clin.Endocr. (Springfield) 11, 251-266 (1951)
140. Westphal, U.
"Das Schicksal des Gelbkörperhormons Progesteron im Organismus."
Naturwissenschaften 28, 465-473 (1940)
141. Westphal, U.
"Umwandlung des Progesterons in Pregnandiol beim Kaninchen."
Hoppe-Seyler's Zschr.physiol.Chem. 273, 1-12 (1942)
142. Westphal, U.
"Über die reduktive Umwandlung des Desoxy-corticosterons zu Pregnandiol im Organismus des Kaninchens."
Hoppe-Seyler's Zschr.physiol.Chem. 273, 13-23 (1942)
143. Westphal, U.
"Umwandlung von Progesteron und Desoxy-corticosteron zu Pregnandiol im Organismus des Kaninchens."
Naturwissenschaften 29, 782 (1942)
144. Wiest, W.G.
"The metabolism of progesterone to Δ^4 -Pregnen-20 α -ol-3-one."
J.Biol.Chem. Baltimore 221, 461-467 (1956)
145. Williams, J.S., H.Hirschmann
"Artifacts resulting from the hydrolysis of natural steroid sulfates."
Fed.Proc. Washington 23, 469 (1963)

146. Wintersteiner, O. und W.M.Allen
"Crystalline Progesterin."
Biochem.J., London 107, 321-336 '1934)
147. Wiswell, J.G. und L.T.Samuels
"The metabolism of progesterone by liver tissue in vitro."
Biochem.J., London 201, 155-160 (1953)
148. Würterle, A.
"Ausscheidung von Oestrogen und Pregnandiol in der Spätschwangerschaft
Geburtsh.u.Frauenhk. 20, 1275 (1960)
149. Zander, J.
"Über das Verhalten des Progesterons im Organismus."
Geburtsh.u.Frauenhk. 11, 312-324 (1951)
150. Zander, J. und K.Solth
"Die Ausscheidung der C₂₁-Steroide bei Neugeborenen."
Klin.Wschr. 31, 317-321 (1953)
151. Zander, J.
"Die Ausscheidung des Pregnandiolkomplexes nach Injektion von Pro-
gesteron beim Menschen."
Geburtsh.u.Frauenhk. 14, 402-423 (1954)
152. Zander, J. und H.Simmer
"Die chemische Bestimmung von Progesteron in organischen Substraten."
Klin.Wschr. 32, 529-540 (1954)
153. Zander, J.
"Progesteron in menschlichem Blut und Geweben."
Klin.Wschr. 33, 697-701 (1955)
154. Zander, J. und A.-M.v.Münstermann
"Progesteron in menschlichem Blut und Geweben."
Klin.Wschr. 34, 944-953 (1956)
155. Zander, J., T.R.Forbes, R.Nehrer und P.Desaulles
"Über biologisch aktive Progesteronmetaboliten im menschlichen Or-
ganismus."
Klin.Wschr. 35, 143 (1957)

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. G. Stark,
danke ich für die Überlassung der Arbeit und die freundliche
Unterstützung bei deren Ausführung.

Außerdem danke ich Herrn Privatdozent Dr. Lange für die
Hilfe bei der Ausführung der statistischen Berechnungen.

Frau U. Krienitz danke ich für ihre Bemühungen bei der Ein-
arbeitung in die Methode und die Hilfe während der Durch-
führung der Untersuchungen.

LEBENS LAUF

Am 21. März 1936 wurde ich als einziger Sohn des Konditormeisters Alexander Beier und seiner Ehefrau Charlotte Beier, geborene Peters, in Zwickau (Sachsen) geboren.

1942 bis 1950 Besuch der Grundschule in Zwickau.

1950 bis 1954 Besuch der Gerhart-Hauptmann-Oberschule in Zwickau, die ich mit dem Reifevermerk verließ.

1954, im Juni, verzog ich nach Frankfurt (Main), um Medizin zu studieren, womit ich im Wintersemester begann.

1957, nach Unterbrechung des Studiums wegen Vorbereitung auf die Ergänzungsprüfung für Abiturienten aus der Sowjetischen Besatzungszone, legte ich diese im Goethe-Gymnasium in Frankfurt (Main) ab. Gleichzeitig arbeitete ich im Privatkrankenhaus Sachsenhausen in Frankfurt (Main).

1959 Beginn des Medizinstudiums in Mainz.

1960 Vorphysikum.

1961 Physikum.

1961 Eheschließung mit der Säuglingsschwester Irmgard Kraushaar. Im gleichen Jahr wurde mein Sohn Ulrich und 1962 mein Sohn Christian geboren.

1961 bis 1964 klinische Semester in Mainz und

1965 Staatsexamen.

1965, Februar bis Mai, Medizinalassistent im Labor der Universitäts-Frauenklinik in Mainz, dabei Beendigung des experimentellen Teils der Doktorarbeit.

1965, Mai bis September, Medizinalassistent in der Chirurgischen Abteilung des Privatkrankenhauses Sachsenhausen in Frankfurt (Main).

1965, September, Umzug nach Vollmerz / Kreis Schlüchtern, Beginn als Medizinalassistent auf der Inneren Abteilung im Kreiskrankenhaus Schlüchtern.

1966, April bis Juli, Medizinalassistent in der Gynäkologisch-geburtshilflichen Abteilung des Stadtkrankenhauses Fulda.

1966, August bis Oktober, in der Chirurgischen Abteilung des Kreiskrankenhauses Schlüchtern.

1967, Februar, Erteilung der Approbation.

Von Oktober 1966 bis jetzt auf der Inneren Abteilung in Schlüchtern bei Chefarzt Dr. U. Ströder, seit Februar 1967 als Assistenzarzt.

